Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 4, Oct- Nov 2021, p. 485-500

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۴، مهر- آبان ۱۴۰۰، ص. ۵۰۰-۴۸۵

مقاله پژوهشی

مقایسه ویژگی‌های تکنولوژیکی جدایه های حاصل از ماست سنتی خراسان با آغازگر تجاری در تولید ماست

فاطمه برمک[۱]- محمدباقر حبیبی نجفی[۲]*- رضا حاجی محمدی فریمانی[۳]- محمدرضا عدالتیان[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۰۸

چکیده

یکی از مهم ترین موارد در تولید ماست انتخاب آغازگر مناسب می‌باشد. جدایه‌های بومی هرکشوری جزء ذخایر ژنتیکی آن کشور محسوب می‌شوند که نقش عمده‌ای در تولید و ایجاد خواص ارگانولپتیکی محصولات تخمیری ایفا می‌کنند. بنابراین مطالعه در زمینه کاربرد صنعتی جدایه‌های بومی ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف از این پژوهش تعیین خصوصیات رئولوژیکی، حسی و فیزیکوشیمیایی ماست تولید شده توسط آغازگرهای بومی جدا شده از نمونه های ماست سنتی منطقه خراسان و مقایسه آن ها با ماست تولید شده توسط آغازگر تجاری بود. که با استفاده از ۶ سویه *استرپتوکوکوس سالواریوس زیر گونه ترموفیلوس* استفاده از ۶ سویهو ۳ سویه *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* ۱۸ نمونه ماست حاصل از شیر گاو در قالب آزمون فاکتوریل به‌صورت طرح کاملا تصادفی در سه تکرار تولید شد و نمونه‌های تولیدی از نظر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و حسی مورد آنالیز قرار گرفتند، سپس با ماست تولید شده توسط آغازگر تجاری مقایسه شدند و با توجه به نتایج حاصله (اسیدیته، pH، درصد آب‌اندازی، زمان تخمیر، ویژگی‌های بافتی و ویژگی‌های حسی)، به انتخاب نمونه‌های ماست برتر در مقایسه با سایر نمونه‌ها و ماست تجاری اقدام شد و در نهایت با توجه به رفتار پروتئولیتیک سویه‌های *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس* و سرعت تولید اسید توسط سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و همچنین تولیدگاما آمینوبوتیریک اسید توسط سویه‌های مذکور، ۵ نمونه ماست تولید شده با استفاده از ترکیب آغازگرهای بومی با کدهای S_1b_1 ، S_2b_2 ، S_5b_1 ، S_6b_2 ، S_4b_2 انتخاب شدندکه ترکیب‌های نام برده جهت تولید ماست فراسودمند در صنعت پیشنهاد گردید.

واژه‌های کلیدی: آب‌اندازی، اسیدیته، آغازگرهای بومی، ماست، ویژگی‌های بافتی.

مقدمه

در ایران فرآورده‌های لبنی سنتی متنوعی همچون ماست، دوغ، مسکه، کشک و قره قروت از شیر گوسفند و بز تهیه می‌شود که ترکیب نوع و نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک آن با آغازگرهای مورد استفاده در مقیاس صنعتی متفاوت می‌باشند (قیامتی، ۱۳۹۱). مطالعه جامعه میکروبی فرآورده‌های سنتی به شناسایی و حفظ ذخایر میکروبی و ژنتیکی کشور کمک می‌نماید. از طرف دیگر به ذائقه مصرف‌کنندگان علاقه مند به محصولات طبیعی و سنتی توجه شده و تقاضای روبه افزایش این فرآورده‌ها را می توان پاسخ گفت. علاوه بر این، تولید و عرضه این کشت‌های آغازگر ضمن ایجاد کسب و کار و ارزآوری منطبق با اقتصاد مقاومتی نیز می‌باشد (حاجی محمدی فریمانی، ۱۳۹۴). کشت‌های میکروبی مورد استفاده در صنعت لبنیات کشور با صرف هزینه بالا و به طور کامل از چند کشور خارجی وارد می‌شود که با توجه به حجم بالای تولید محصولات لبنی تخمیری (پنیر، ماست و دوغ) سالانه ارز قابل توجهی از کشور خارج می‌شود. این در حالی است که تعداد سویه‌های مختلف باکتری‌های آغازگر محدود می‌باشد. از این رو تلاش‌هایی برای جداسازی سویه‌های جدید از منابع طبیعی مختلف همچون شیر خام، گیاهان و فرآورده‌های لبنی تخمیری سنتی در سراسر جهان در جریان است (حاجی محمدی فریمانی و همکاران، ۲۰۱۶). Han و همکاران (۲۰۱۴) ۹ سویه باکتری‌های اسید لاکتیک از بین ۳۲ جدایه‌ی بومی لاکتیکی را از هفت نمونه محصولات لبنی مناطق شمال غربی چین جهت تولید ماست انتخاب کردند. از ایزوله‌ها به‌طور ترکیبی به‌عنوان آغازگر ماست استفاده کردند و اثرات آغازگر تجاری و ترکیب سویه‌های انتخاب شده از ایزوله‌ها بر روی کیفیت ماست از نظر سرعت تولید اسید، بافت و خصوصیات حسی را مورد مقایسه قرار دادند.

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار، گروه علوم وصنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۳- استادیار، بخش علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: habibi@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v17i4.86655

Dincel (۲۰۱۲) به بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی ماست‌های تولید شده توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک ایزوله شده از ماست سنتی ترکیه پرداخت. با ترکیب شدن شش سویه *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* و ۶ سویه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* به صورت‌های مختلف به تولید ۳۶ مورد ماست حاصل شد. که این جدایه‌ها از میان مجموعه‌ای شامل ۱۱۱ سویه *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* و ۵۶ سویه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* که از ماست سنتی ترکیه با توجه به فعالیت اسیدی شدن و تولید استالدئید ایزوله شده بودند، انتخاب شدند. همچنین در این مطالعه دو نمونه ماست تولید شده توسط آغازگر تجاری نیز به‌عنوان نمونه شاهد نیز به‌کار گرفته شد و از جنبه‌های مختلف مورد آنالیز قرار گرفتند: ۱- تعیین pH و اسیدیته قابل تیتر در طول بیست و یک روز ذخیره‌سازی (جهت تعیین عمر مفید نمونه‌ها) ۲- تعیین آب‌اندازی ۳- بررسی سفتی و بافت ماست ۴- سپس به بررسی محتوای استالدئید و اگزوپلی‌ساکاریدها پرداخته شد. Çelik (۲۰۰۷) به تعیین ترکیبات مولد عطر و تشکیل‌دهنده اگزوپلی‌ساکاریدها توسط باکتری‌های اسید لاکتیک ایزوله شده از ماست سنتی پرداخت. او تعداد بیست نمونه ماست که توسط مایه آغازگر ترکیبی شامل ۴ سویه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و ۵ سویه *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* بود را تولید کرد همچنین علاوه به بررسی تولید ترکیبات مولد آروما و اگزوپلی‌ساکاریدها، آنالیزهای شیمیایی و میکروبی و فیزیکی و ارگانولپتیکی را انجام داد. پوراحمد و مظاهری اسدی (۲۰۰۵) به تولید ماست با استفاده از کشت‌های آغازگر بومی ایران پرداختند. آنها به تولید ماست با کیفیت خوب از آغازگرهای بومی و سپس به بررسی ماست‌های تولیدی از نظر ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و ارگانولپتیکی پرداختند، این پژوهش نشان داد که اسیدیته و محتوای استالدئید در طول زمان نگهداری (۲۱روز) در دمای ۴ درجه سانتیگراد به‌طور معنی‌داری درسطح آماری ۵٪ افزایش یافت، میزان pH و جمعیت میکروبی در طی زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، همچنین تفاوت معنی‌داری در ویژگی‌های ارگانولپتیکی (طعم، بو، بافت) پس از ۲۱ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد وجود نداشت و در نهایت به این نتیجه رسیدند که استفاده از ماست‌های تولید شده توسط آغازگرهای بومی می‌تواند رضایت‌بخش باشد و در مقیاس صنعتی گسترش یابد. Xanthopoulos و همکاران (۲۰۰۱) به بررسی خصوصیات و طبقه‌بندی ۷۴ سویه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس و* ۷۵ سویه *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* جدا شده از ماست‌های سنتی یونانی پرداختند. سویه‌های مذکور را از نظر سرعت تولید اسید، ویسکوزیته، توانایی تولید مواد معطره بررسی کرده و به طبقه‌بندی آن‌ها پرداختند. پوراحمد و همکاران (۱۳۸۹) به بررسی میزان استالدئید در ماست‌های تولید شده به‌وسیله سویه‌های میکروبی بومی پرداختند. در این پژوهش سویه‌های میکروبی مورد استفاده در تولید ماست دو سویه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس و دو سویه لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس* که از نمونه ماست سنتی جداسازی شده بود استفاده گردید و ماست با استفاده از آغازگر تجاری به‌عنوان نمونه شاهد به‌کاربرده شد. مقدار استالدئید به کمک روش تقطیر و تزریق در دستگاه GC اندازه‌گیری شد و ویژگی‌های شیمیایی و حسی نمونه‌ها بررسی گردید. تمام سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس* مورد استفاده در این پژوهش در پژوهش دیگری، از نظر صفات متعددی از جمله: مقاومت به آنتی‌بیوتیک، تولید آمین‌های بیوژنیک، تولید مواد معطر، تولید اگزوپلی‌ساکاریدها و رفتار ارگانیسم‌ها در هنگام تخمیر شیر مورد ارزیابی قرار گرفته اند (حاجی محمدی فریمانی و همکاران، ۲۰۱۶). تولید آمین‌های بیوژنیک و مقاومت به آنتی‌بیوتیک به‌عنوان معیارهای منفی جهت انتخاب آغازگر می باشند که سویه‌های به‌کارگرفته شده از این نظر ایمن می‌باشند، از میان مواد معطر تولید شده (۷ تا ۱۲ ترکیب فرار مختلف) استالدئید به‌عنوان ترکیب اصلی، که پس از آن اتانول و اسید استیک به میزان قابل توجهی توسط هر یک از سویه‌ها گزارش گردیده است. همچنین سویه‌ها توانایی مناسبی در تولید لخته یکدست و بدون آب اندازی از خود نشان دادند، از نظر تولید اگزوپلی‌ساکارید سویه‌های تولیدکننده اگزوپلی‌ساکارید دارای فنوتیپ لعابی (موکوئید) بودند که به همین دلیل برای تولید ماست سفت که باید بافتی قاشق بردار داشته باشد (مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۶۹۵، ۱۳۸۷) مطلوب تلقی می‌شود.

تحقیق حاضر تلاشی برای بررسی اثر فعالیت متابولیکی حاصل از سویه‌های آغازگر لاکتیکی بومی فوق الذکر جهت تولید ماست منطبق بر خواص حسی، تکنولوژیکی، رئولوژیکی مطلوب صنعت و مقایسه نمونه ها با نمونه ماست تولید شده توسط آغازگر تجاری بوده است.

مواد و روش‌ها

سویه‌های میکروبی

سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (۶ سویه) و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس* (۳ سویه)، جدایه‌های به‌دست آمده از ماست‌های سنتی (حاجی محمدی فریمانی، ۱۳۹۴) که به صورت ترکیبی (جدول ۱) استفاده شدند به همراه دو نوع کشت‌های آغازگر تجاری ماست پرچرب از شرکت micro milk ایتالیا و DSM هلند تهیه گردید.

جدول ۱- جدایه‌های آغازگر بومی و آغازگر تجاری به‌کار رفته در این پژوهش

شماره ایزوله	منبع جداسازی	کد/ نام باکتری	شماره ایزوله	منبع جداسازی	کد/نام باکتری
۱-۷۹	ماست همزه-کانلو	S1/ *استرپتوکوکوس سالواریوس زیر*	۳-۴۶	ماست کنارخانه	S5/ *استرپتوکوکوس سالواریوس زیر گونه ترموفیلوس*
۲-۷۹	ماست همزه-کانلو	S2/ *استرپتوکوکوس سالواریوس زیر*	۴۳	ماست نهور	S6/ *استرپتوکوکوس سالواریوس زیر گونه ترموفیلوس*
۷۸	ماست همزه-کانلو	S3/ *استرپتوکوکوس سالواریوس زیر*	84	ماست همزه-	L_1/ *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس*
۷۲	ماست توماغ	S4/ *استرپتوکوکوس سالواریوس زیر گونه ترموفیلوس*	2-25	ماست نهور	L_2/ *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس*
-	شرکت DSM	-	4	ماست کندور	L_3/ *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس*
-	شرکتMicromilk	-			

شرایط کشت جدایه‌های بومی

فعال‌سازی و کشت باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس با* استفاده از محیط‌های کشت M17 Agar و Mrs Agar به‌ترتیب تحت شرایط دمایی۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌طور هوازی و ۴۲ درجه سانتی گراد به‌صورت بی‌هوازی (قرار دادن آن‌ها در جار بی‌هوازی) انجام شد (Çelik, 2007).

ارزیابی فعالیت پروتئولیتیک جدایه‌های بومی

جهت ارزیابی فعالیت پروتئولیتیک سویه‌های *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس*، در محیط کشت MRS به مدت ۲۴ -۴۸ ساعت در دمای ۳۷-۴۲ درجه سانتی‌گراد تکثیر شد. به‌منظور ارزیابی فعالیت پروتئولیتیک، در پلیت حاوی محیط کشت skim milk agar (۱ درصد وزنی/ حجمی پودر شیر خشک بدون چربی و ۱ درصد وزنی/ حجمی آگار) چاهک ایجاد شد و مقدار ۵۰ میکرولیتر سوپرناتانت (قرار دادن حجم ml ۵ سوسپانسیون میکروبی، در سانتریفوژ دور (g) ۳۰۰۰ ، مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به چاهک اضافه شد. پلیت‌ها در دمای ۲۴ – ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و مناطق هاله شفاف به‌عنوان فعالیت پروتئولیتیک مثبت در نظر گرفته شد و با اندازه‌گیری قطر دایره هاله شفاف به میلی‌متر تعیین گشت (Nespolo *et al*, 2010).

به‌منظور ارزیابی فعالیت پروتئولیتیک سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، کشت خطی باکتری‌ها روی محیط کشت حاوی ۱/۵گرم بر ۱۰۰میلی لیتر آگار، ۱/۹ گرم بر ۱۰۰میلی‌لیتر محلول سدیم گلیسرول فسفات، ۵ گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر پودر شیر خشک بدون چربی و در نهایت ۰/۰۱گرم بر ۱۰۰۰ میلی لیتر بروموکرزول بنفش انجام شد و به مدت ۲۴-۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هوازی گرمخانه‌گذاری شدند. ظهور کلنی‌های زرد رنگ بر سطح محیط کشت به‌عنوان فعالیت پروتئولیتیک مثبت در نظر گرفته شدند (Erkus *et al*, 2014).

ارزیابی فعالیت اسیدی کردن شیر جدایه‌های بومی

جهت ارزیابی فعالیت تولید اسید توسط جدایه‌ها، به محیط تشکیل شده از ۱۰ درصد وزنی حجمی (آب مقطر) پودر شیر خشک بدون چربی و ۱ درصد وزنی حجمی عصاره مخمر، سویه‌های مورد بررسی تلقیح شدند (۱٪ حجمی/ حجمی) و به مدت ۶ ساعت در گرمخانه ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و هر یک ساعت با استفاده از pHمتر (Metrohm، سوئیس) میزان pH نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (Erkus *et al*, 2014).

ارزیابی خاصیت تولید گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا) جدایه‌های بومی

در ابتدا ۵ میلی‌لیتر از کشت شبانه سویه‌ها با دور g ×۵۰۰۰ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ (sigma، آلمان) شد و رسوب سلولی با محلول ۰/۹ درصد سدیم کلرید (حجمی/ وزنی)، شستشو و مجددا سانتریفوژ با همان شرایط قبل بر روی سلول‌ها انجام گرفت. نمونه‌ها در محلول معرف gad معلق شدند که این معرف شامل: ۱گرم ال —گلوتامیک اسید،۰/۳میلی لیتر تریتون ایکس-۱۰۰، ۹۰ گرم سدیم کلرید و ۰/۰۵ گرم بروموکرزول سبز در ۱ لیتر از آب مقطر حل و pH=۴ تنظیم شده، بود. پس از ۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تحت شرایط بی‌هوازی تغییرات رنگ (ایجاد رنگ زرد به معنای عدم فعالیت آنزیم، رنگ سبز فعالیت کم و رنگ آبی بیانگر فعالیت زیاد آنزیم بود) مورد بررسی قرار گرفت (Lacroix *et al*,2013).

تولید ماست با استفاده از آغازگر تجاری و جدایه‌های بومی

در ابتدا شیر پرچرب (۳٪)، هموژنیزه شده، تحت حرارت ۹۵-۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت، پس از اتمام فرآیند

حرارتی ظروف حاوی شیر تا دمای ۴۵-۴۲ درجه سانتی‌گراد در حمام آب سرد خنک گردید. سپس آغازگرها (آغازگر تجاری و جدایه‌های مورد بررسی) به نسبت ۳٪ حجمی حجمی به شیر تلقیح شدند و پس از اختلاط کامل در ظروف ۱۰۰ گرمی تقسیم شده و به گرمخانه با دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند. با رسیدن نمونه‌ها به pH= ۴/۶ از گرمخانه خارج شده و به یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت (حبیبی نجفی و همکاران، ۱۳۷۷).

اندازه‌گیری اسیدیته و pH نمونه‌های ماست

اسیدیته ماست به روش تیتراسیون و pH مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ (۱۳۸۵) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری زمان تخمیر نمونه‌های ماست

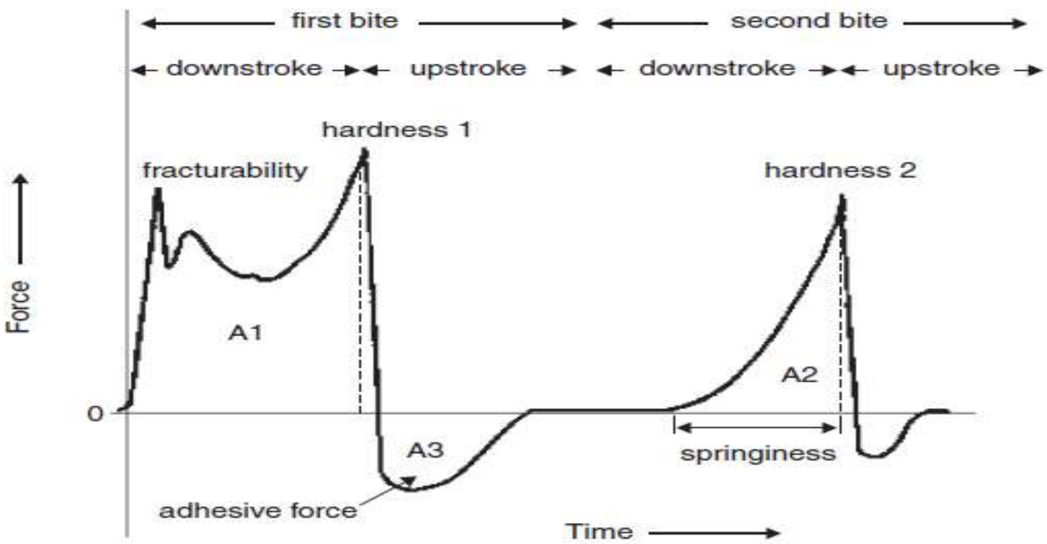
زمان تخمیر با اندازه‌گیری نمونه‌ها در شروع زمان گرمخانه‌گذاری تا رسیدن به۴/۶ تعیین شد.

اندازه‌گیری آب‌اندازی نمونه‌های ماست

برای اندازه‌گیری آب‌اندازی، ۳۰ گرم از نمونه ماست در لوله‌ی فالکون با حجم ۵۰ میلی لیتر ریخته شد و با دور g× ۱۵۳۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. حجم آب جدا شده اندازه‌گیری گردید و آب اندازی به‌صورت میزان مایع جدا شده در هر صد میلی‌لیتر ماست بیان شد (Çelik, 2007).

آزمایش بافت‌سنجی نمونه های ماست

به‌منظور سنجش ویژگی‌های بافتی از دستگاه بافت‌سنج Texture analyzer (انگلستان) استفاده شد. ترکیبی از روش‌های اکستروژن پسرو [1] و آنالیز پروفیل بافت (TPA) [2] برای تعیین پارامترهای بافتی به‌کار گرفته شد (Yang *et al*, 2010). نیروی مورد نیاز برای نفوذ پروب استوانه‌ای با قطر۵۰ میلی‌متر با سرعت ۱ میلی‌متر بر ثانیه تا عمق ۱/۵سانتی‌متر (فشردگی نمونه ٪۶۰) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر نمونه‌های ۱۰۰ گرمی داخل ظروف استوانه‌ای با قطر ۶ سانتی‌متر اعمال گردید. از نتایج منحنی نیرو-زمان در دو سیکل بارگذاری مقادیر ویژگی‌های بافتی با استفاده از نرم‌افزار Nexygen به‌دست آمد که شامل سفتی [3]، پیوستگی [4]، چسبندگی [5]، صمغیت [6] می‌باشند.



شکل ۱- منحنی TPA (جامز، ۱۹۹۶)

آزمون حسی

به‌منظور ارزیابی خصوصیات حسی محصول از ۲۰ نفر از دانشجویان تحصیلات تکمیلی گروه علوم و صنایع غذایی آموزش دیده استفاده شد. ارزیابان بر اساس علاقه و دقت انتخاب گردیده و همچنین غربالگری ارزیابان با انجام آزمون مثلثی [8] صورت گرفت، در خصوص امتیازدهی به رنگ و ظاهر، آروما، بافت، طعم وپذیرش کلی آموزش داده شد. در

1 Back extrusion
2 Texture profile analysis
3 Hardness
4 Cohesiveness
5 Adhesiveness
6 Giummness
7 Triangle test

این آزمون از روش هدونیک ۵ نقطه ای استفاده شد؛ که به نمونه بسیار رضایت بخش نمره ۵، رضایت‌بخش ۴، قابل قبول ۳، غیرقابل قبول ۲، غیرقابل مصرف ۱،تعلق گرفت (استاندارد ملی ایران، شماره ۴۶۹۱).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این پژوهش بر مبنای آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار مستقل اجرا گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با کمک نرم‌افزار آماری مینی‌تب (نسخه ۱۷) انجام گرفت. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) انجام شد. منحنی‌ها با نرم‌افزار مایکروسافت (نسخه ۲۰۱۳)رسم شدند.

نتایج و بحث

فعالیت پروتئولیتیک سویه‌های *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس*

فعالیت پروتئولیتیک یک ویژگی مهم برای کشت‌های آغازگر به‌شمار می‌رود زیرا به کمک آن سوبسترای آنزیم‌های کاتابولیک برای تولید اسید آمینه را فراهم می‌کند. اصولا سویه‌های با فعالیت پروتئولیتیک بالا برای به‌کارگیری به‌عنوان کشت آغازگر مناسب هستند (Yvon,2006).

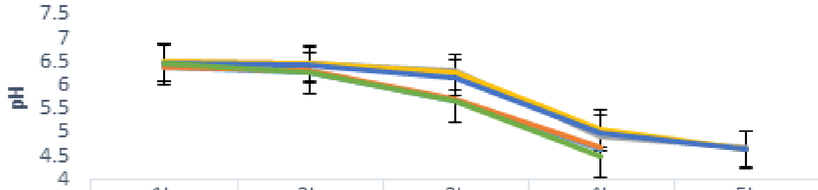
نتایج به‌دست آمده از آزمون روش انتشار چاهک نشان داد که قطر هاله سه سویه *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه بولگاریکوس با کدهای L1، L2 و L3 به‌ترتیب برابر با ۲۱، ۱۵ و ۷ میلی‌متر بود.

فعالیت پروتئولیتیک سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*

تمامی سویه‌ها روی محیط کشت، ظرف مدت ۴۸ ساعت رنگ محیط کشت را از بنفش به زرد تغییر دادند و پس از مدت ۲۴ ساعت، سویه‌های S_6 و S_5 کلنی زرد رنگ ایجاد نمودند (سنجش به صورت کیفی انجام شده است)، بنابراین تمامی سویه‌های مورد مطالعه در این پژوهش پروتئاز مثبت و دارای فعالیت پروتئولیتیک می‌باشند.

فعالیت اسیدی کردن شیر

از آنجا که تولید اسید باعث تجمع کازئین و در نتیجه تشکیل ژل ماست می‌شود (حبیبی نجفی و همکاران، ۱۳۷۷)، سرعت تولید اسید مهم‌ترین ویژگی فناورانه کشت آغازگر ماست به جهت انتخاب آن‌ها به‌عنوان آغازگر می‌باشد. تولید اسید در ویژگی‌های عطر، بافت و طعم فرآورده، حائز اهمیت است (De vuyst *et al*,2000). *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس برخلاف استرپتوکوکوس ترموفیلوس* قدرت تولید اسید کمتری نسبت به استرپتوکوکوس ترموفیلوس دارد اما مقاومت آن در شرایط اسیدی نسبت به باکتری دیگر بیشتر است این باکتری با قدرت پروتئولیتیکی که دارد در آغاز فرآیند تخمیر از تجزیه پروتئین‌های شیر، اسیدآمینه‌های لازم خصوصاً گلیسین و والین را برای *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* که قدرت پروتئولیتیکی پائین دارد، فراهم می‌کند.



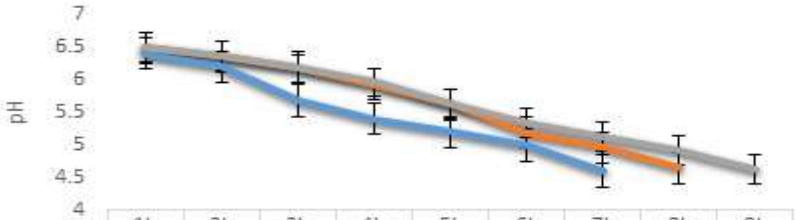
	1h	2h	3h	4h	5h
S1	6.39	6.29	5.68	4.65	
S2	6.4	6.3	5.7	4.69	
S3	6.49	6.46	6.3	4.93	4.68
S4	6.49	6.46	6.28	5.08	4.64
S5	6.47	6.42	6.16	4.99	4.67
S6	6.46	6.27	5.67	4.5	

شکل ۲- فعالیت اسیدی کردن شیر توسط سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*.

نسبت باکتری کوکسی به باسیل در کشت آغازگر ماست یک به یک است در حقیقت زمانی که این کشت به شیر تلقیح می شود این باکتری‌ها شروع به رشد کرده و لاکتوز را تخمیرکرده به اسید لاکتیک تبدیل می‌کنند. در نتیجه باعث بالارفتن اسیدیته شیر می‌شود و pH شیر به حدود ۴/۵-۴ می‌رسد که در این pH کازئین‌های شیر تجمع می‌کنند که نتیجه این تراکم کازئین‌ها شبکه پروتئینی ایجاد شده که ساختار و قوام ماست را به‌وجود می‌آورند. در ابتدا رشد باکتری‌های کوکسی سریعتر از رشد باسیل‌ها است و بعد در اثر افزایش اسیدیته رشد باسیل‌ها سریعتر از کوکسی‌ها می‌گردد و در ادامه روند تخمیر تعداد هر دو باکتری برابر می‌گردد. رشد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* توسط اسید آمینه‌های

آزاد (گلیسین و هیستیدین) و پپتیدهای کوچک پروتئین‌های شیر که توسط فعالیت آنزیم پروتئاز *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* ایجاد شده، فراهم می‌شود و در عین حال رشد *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* با افزایش اسیدیته به دلیل تولید اسید فرمیک و اسید فولیک و... توسط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، تحریک می‌گردد (Corrieu *et al*, 2016). نقش این دو باکتری را می‌توان به‌طور خلاصه در اسیدی شدن شیر و سنتز ترکیبات معطر ماست نام برد (Innocente *et al*, 2016).

تمام سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* مورد بررسی کمتر از پنج ساعت pH شیر را به ۴/۶ رساندند و سویه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس کد* S_6 به‌عنوان سریع‌ترین تولید کننده اسید طی مدت۳ ساعت و۳۰ دقیقه pH شیر را به ۴/۶ رساند (شکل ۲). سویه‌های *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* L1، L2 و L3 به‌ترتیب طی مدت ۷، ۸ و ۹ ساعت توانستد pH شیر را به ۴/۶ کاهش دهند (شکل ۳).



	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	9h
L1	6.4	6.2	5.68	5.4	5.2	5	4.6		
L2	6.49	6.36	6.19	5.93	5.62	5.19	4.96	4.65	
L3	6.5	6.37	6.17	5.96	5.63	5.34	5.12	4.92	4.64

شکل ۳- فعالیت اسیدی کردن شیر توسط سویه‌های *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس*.

تولید گابا

گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا) یک اسید آمینه چهارکربنی غیرپروتئینی است که به‌طور گسترده‌ای در گیاهان، حیوانات و میکروارگانیسم‌ها وجود دارد (Ueno,2000). گابا دارای چندین عملکرد فیزیولوژیکی خاص و مهم مانند: درمان بی‌خوابی و افسردگی، بیماریهای خود ایمنی، درمان ناهنجاری‌های عصبی، کاهش استرس، فشار خون و ... می‌باشد، همچنین گابا غلظت هورمون‌های رشد پلاسما و سرعت سنتز پروتئین در مغز را بهبود می بخشد Hagiwara *et al*, (2004). بسیاری از میکروارگانیسم‌ها: قارچ ها، مخمرها و باکتری‌ها قادر به تولید گابا هستند، که در میان آنها باکتری‌های اسید لاکتیک به جهت اینکه دارای فعالیت فیزیولوژیکی خاص هستند، همچنین منابع ایمنی می‌باشند و به‌طور گسترده‌ای در صنایع غذایی استفاده می‌شوند، بسیار مورد توجه قرار گرفتند. تولید گابا توسط باکتری‌های اسید لاکتیک ایمن و سازگار با محیط زیست بوده و همچنین امکان تولید محصولات سلامتی‌زای تخمیری غنی شده با گابا را فراهم می‌کند و برخی از این باکتری‌های اسید لاکتیک به جهت دارا بودن آنزیم گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز قادر به تولید گابا می‌باشند (Li *et al* ,2010) که این آنزیم درون سلولی بوده (Huang *et al*, 2007) و در پاسخ به استرس اسیدی در این نوع باکتری‌ها القا می‌شود (Sanders *et al* ,1998). میزان pH بهینه برای حفظ فعالیت این آنزیم حدود ۵-۴ می‌باشد و دمای مطلوب برای فعالیت آن ۳۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (Servili *et al*,2011). بنابراین گابا دارای این پتانسیل است که به‌عنوان یک ترکیب سودمند در صنایع غذایی و دارویی به‌کار رود. BumPark و همکاران (۲۰۱۱) به تولید ماستی با سطوح افزایش یافته گابا و مواد مغذی با ارزش بالا (اسید آمینه‌های آزاد) با استفاده از عصاره سویا جوانه زده و باکتری‌های اسید لاکتیک پرداختند آنها شیر سویای تخمیر شده (ماست سویا حاوی گابا) را با کمک آغازگر تولید کردند که غلظت گابا در این ماست درحدود µg ۶۷/۴۲۴ می‌باشد در حالی که ماست‌های تولید شده مطابق روش رایج و مرسوم حاوی کمتر از µg ۱/۵گابا هستند و نتایج حاصله در این مطالعه نشان داد که به‌کارگیری *لاکتوباسیلوس برویس* و سویای جوانه زده در صنایع لبنی جهت تولید موادغذایی فراسودمند با ارزش غذایی بالا چشم‌انداز روشنی خواهد داشت. در این پژوهش جهت تشخیص کیفی وجود گابا از یک آزمون سریع رنگ‌سنجی براساس حضور و عدم حضورآنزیم گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز (GAD) استفاده شد. به‌طوری که ایجاد رنگ زرد به معنای عدم فعالیت آنزیم، رنگ سبز فعالیت کم و رنگ آبی بیانگر فعالیت زیاد آنزیم بود (Lacroix *et al*,2013). نتایج نشان داد که، در بین سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، کدهای S1، S5 و S6 دارای تغییر رنگ واضح و قابل تشخیص آبی بودند، سایر سویه‌ها رنگ سبز را از خود نشان دادند. در بین سویه‌های *لاکتوباسیلوس* سویه شماره L_3 هیچ‌گونه تغییر رنگی از خود نشان نداد، به‌طوری که می‌توان گفت در مقایسه با نمونه شاهد تغییر چندانی نداشت و زرد رنگ بود و سویه‌های L_1، L_2 رنگ سبز را ایجاد کردند.

تولید ماست توسط آغازگرهای بومی و تجاری میزان اسیدیته و pH

اسید لاکتیک محصول عمده کاتابولیسم لاکتوز در فرآیند تولید ماست است. با تولید تدریجی اسید لاکتیک، میسل کازئین ناپایدار شده که به دلیل حل شدن فسفات کلسیم کلوئیدی است، به دنبال آن پروتئین‌های آب پنیر دناتوره می‌شوند. به‌طوری که با تجمع کازئین ژل ماست تشکیل می‌شود. اسید لاکتیک به ماست مزه خاص و معینی نظیر مزه اسیدی و ترش می‌دهد و باعث تشدید طعم‌های معطر می‌شود (Tamime *et al*, 1999). میزان pH و اسیدیته نمونه‌ها با یکدیگر به‌طور معنی‌داری تفاوت داشت (P<۰/۰۵). تفاوت در pH و اسیدیته بین نمونه‌های مختلف سویه‌های متفاوت از یک گونه را می‌توان به اختلافات درون گونه‌ای نسبت داد. نمونه S5L2 و S2L2 نسبت به سایر نمونه‌ها پس از یک شب نگهداری در سردخانه بیشترین کاهش pH و افزایش اسیدیته را نشان دادند (P<۰/۰۵). سایر نمونه‌ها پس از یک شب نگهداری در یخچال میزان تغییرات pH و اسیدیته‌هایی مشابه نمونه‌های شاهد داشتند. Soomro و همکاران (۲۰۰۸) به انتخاب آغازگرهای ماست از جدایه‌های بومی *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* بر اساس خواص تکنولوژیکی (تولید اسیدیته مناسب پس از زمان لازم، تولید ترکیبات مولد عطر و طعم و انجام تست پانل برای ماست‌های تولید شده توسط ترکیب آغازگرهای بومی) پرداختند. نتایج نشان داد که تعدادی از جدایه‌ها قادر به تولید اسید به میزان بیش تر از ۰/۷درصد بعد از ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری هستند و میزان استالدئید تولیدی به‌عنوان ترکیب اصلی مولد عطر و طعم توسط مخلوط کشت (*استرپتوکوکوس ترموفیلوس به همراه لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*) از طریق روش گاز کروماتوگرافی سنجیده شد که به میزان آنppm ۱۹/۹۵ در ۴۳ درجه سانتی‌گراد بود و در نهایت به این نتیجه رسیدند که سویه‌ها پتانسیل به‌کارگیری به‌عنوان کشت آغازگر در تولید ماست را دارا هستند. اسکندری و همکاران (۱۳۹۰) به بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی مهم صنعتی باکتری‌های آغازگر ایزوله شده از ماست‌های بومی ایران پرداختند براساس نتایج به‌دست آمده دراین مطالعه آغازگرهای بومی نسبت به آغازگرهای تجاری از توانایی بیشتری در افزایش اسیدیته در ابتدای فرآیند تخمیر و کاهش توان تولید اسید در مرحله بیش اسیدسازی برخوردار بودند.

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های ماست

نمونه‌ها	pH	اسیدیته (درصد اسید لاکتیک)	آب اندازی (درصد)	زمان تخمیر(ساعت)
S_1L_1	۴/۴۰±۰/۴۰ ^{abcd}	۰/۷۴±۰/۰۰۶ ^{abc}	۳۸/۵۷±۴/۶۲ ^{c}	۴
S_1L_2	۴/۴۵±۰/۰۵۵ ^{abcd}	۰/۷۳±۰/۰۳۱ ^{abc}	۴۱/۵۵±۲/۰۴ ^{abc}	۳/۳۰
S_1L_3	۴/۴۶±۰/۱۲۵ ^{abc}	۰/۷۲±۰/۰۲۵ ^{abc}	۴۱/۸۹±۲/۰۱ ^{abc}	۵
S_2L_1	۴/۵۸±۰/۰۴۰ ^{a}	۰/۷۱±۰/۰۱۵ ^{bc}	۴۴/۷۸±۰/۶۹ ^{abc}	۵
S_2L_2	۴/۲۷±۰/۰۲۰ ^{cd}	۰/۷۷±۰/۰۰۶ ^{a}	۴۰/۰۰±۰/۶۷ ^{bc}	۴/۳۰
S_2L_3	۴/۲۹±۰/۰۱۰ ^{cd}	۰/۷۶±۰/۰۰۶ ^{ab}	۴۶/۴۴±۲/۱۲ ^{a}	۵
S_3L_1	۴/۳۷±۰/۰۱۷ ^{bcd}	۰/۷۶±۰/۰۰۶ ^{ab}	۴۱/۵۷±۱/۱۷ ^{abc}	۴/۰۰
S_3L_2	۴/۴۵±۰/۱۱۵ ^{abcd}	۰/۷۳±۰/۰۳۰ ^{abc}	۴۰/۷۸±۱/۳۵ ^{abc}	۴/۳۰
S_3L_3	۴/۵۹±۰/۰۸۰ ^{a}	۰/۶۹±۰/۰۲۱ ^{c}	۴۶/۳۳±۲/۰۳ ^{ab}	۶
S_4L_1	۴/۶۰±۰/۰۱۵ ^{a}	۰/۶۹±۰/۰۰۶ ^{c}	۴۴/۴۵±۲/۵۵ ^{abc}	۵
S_4L_2	۴/۳۵±۰/۰۳۸ ^{bcd}	۰/۷۷±۰/۰۰۶ ^{ab}	۴۵/۰۰±۱/۶۷ ^{ab}	۴/۳۰
S_4L_3	۴/۴۵±۰/۰۵۵ ^{abcd}	۰/۷۴±۰/۰۰۶ ^{abc}	۴۰/۸۹±۲/۱۴ ^{abc}	۵
S_5L_1	۴/۳۲±۰/۰۱۷ ^{cd}	۰/۷۵±۰/۰۱۰ ^{ab}	۴۲/۰۰±۰/۸۸ ^{abc}	۴
S_5L_2	۴/۲۶±۰/۰۳۵ ^{d}	۰/۷۶±۰/۰۱۲ ^{ab}	۴۲/۵۵±۲/۲۷ ^{abc}	۴/۳۰
S_5L_3	۴/۴۴±۰/۰۳۵ ^{abcd}	۰/۷۴±۰/۰۰۶ ^{abc}	۴۱/۵۵±۱/۳۵ ^{abc}	۴
S_6L_1	۴/۴۵±۰/۱۵۰ ^{abcd}	۰/۷۳±۰/۰۴۶ ^{abc}	۴۳/۶۷±۲/۱۸ ^{abc}	۵
S_6L_2	۴/۵۰±۰/۰۲۰ ^{ab}	۰/۷۲±۰/۰۱۵ ^{bc}	۴۳/۱۱±۲/۸۸ ^{abc}	۳/۳۰
S_6L_3	۴/۳۴±۰/۰۳۶ ^{bcd}	۰/۷۴±۰/۰۰۶ ^{abc}	۴۲/۷۸±۰/۹۶ ^{abc}	۴

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند دارای تفاوت معنی دار می باشند(P<۰/۰۵)

آب‌اندازی

مقدار آب‌اندازی ۱۸ نمونه‌ی مورد بررسی در محدوده ۴۶/۴۴-۳۸/۵۶ درصد بود (P<۰/۰۵)، که در مقایسه با دو نمونه ماست تولید شده با آغازگر تجاری، مقدار آب‌اندازی ماست شاهد DSM بیشتر از نمونه‌ها بود (۴۷/۲۶٪) و همچنین می‌توان گفت که آب‌اندازی ماست شاهد Micromilk تقریبا مشابه نمونه‌های مورد بررسی بود (۴۳/۸۹٪).

بنابراین نتایج یافت شده حاکی از توانایی رقابت ماست‌های تولید شده توسط آغازگرهای بومی از حیث آب‌اندازی با ماست‌های تولید شده توسط آغازگرهای تجاری می‌باشد به‌طوری که نمونه‌هایی با کدهای: S_1L_1 ، S_3L_2، S_3L_1، S_2L_2 مقدار آب‌اندازی کمتری را نسبت به آغازگرهای تجاری نشان دادند که این کاهش مقدار آب‌اندازی نمونه‌ها را می‌توان به دلیل احتمال تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط سویه‌های مذکور دانست.

جدول ۳- ویژگی‌های بافتی نمونه‌های ماست در آزمون ترکیبی TPA- اکستروژن پسرو

نمونه	سفتی(N)	پیوستگی	چسبندگی(Nm)	صمغیت(N)
S_1L_1	۳/۹۲۱۰۳±۰/۰۳۹ ^{cd}	۰/۳۸۱۲۹۲±۰/۰۳۹^{abcd}	۰/۰۰۳۵۸۱۲±۰/۰۰۰۸^{a}	۱/۴۱۰۹۳±۰/۰۲۰^{abcd}
S_1L_2	۳/۴۷۲۹۲±۰/۳۵۹^{ef}	۰/۴۱۴۶۵۵±۰/۰۰۶^{ab}	۰/۰۰۴۱۳۷۶±۰/۰۰۰۲^{a}	۱/۴۴۶۲۵±۰/۱۵۱^{abcd}
S_1L_3	۳/۹۹۱۸۵±۰/۰۰۴^{bcd}	۰/۳۹۸۷۲۳±۰/۰۱۸^{abc}	۰/۰۰۲۷۴۲۳±۰/۰۰۰۷^{a}	۱/۵۹۱۷۱±۰/۰۷۵^{a}
S_2L_1	۳/۵۱۲۶۴±۰/۲۶۸ ^{ef}	۰/۴۲۴۹۳۷±۰/۰۱۱^{a}	۰/۰۰۳۶۲۹۶±۰/۰۰۱۹^{a}	۱/۴۹۰۸۶±۰/۰۷۹^{abc}
S_2L_2	۴/۴۱۶۰۲±۰/۰۹۰^{a}	۰/۳۶۸۴۷۵±۰/۰۳۶^{abcde}	۰/۰۰۳۸۳۳۶±۰/۰۰۲۸^{a}	۱/۶۲۴۰۱±۰/۱۲۶^{a}
S_2L_3	۳/۸۵۷±۰/۲۰۷^{cde}	۰/۳۴۶۵۹۵±۰/۰۱۴^{cde}	۰/۰۰۴۷۸۱۲±۰/۰۰۰۴^{a}	۱/۳۳۳۹۸±۰/۰۱۹^{bcde}
S_3L_1	۳/۳۹۹۸۲±۰/۰۷۳^{f}	۰/۳۸۸۸۵۰±۰/۰۲۴^{abcd}	۰/۰۰۴۲۲۳۰±۰/۰۰۰۸^{a}	۱/۳۲۲۸۴±۰/۱۰۳^{bcde}
S_3L_2	۴/۳۶۰۸۱±۰/۰۰۸^{ab}	۰/۳۳۳۶۴۰±۰/۰۰۷^{de}	۰/۰۰۲۲۹۴۱±۰^{a}	۱/۴۵۴۸۷±۰/۰۳۹^{abcd}
S_3L_3	۳/۳۴۴۹۶±۰/۰۱۶^{f}	۰/۳۸۸۳۳۷±۰/۰۱۴^{abcd}	۰/۰۰۲۲۹۴۱±۰/۰۰۰۴^{a}	۱/۴۲۷۵۲±۰/۰۰۵^{abcd}
S_4L_1	۳/۴۷۳۳۳±۰/۱۰۷^{ef}	۰/۳۶۸۱۷۵±۰/۰۲۵^{abcde}	۰/۰۰۳۴۵۲۰±۰/۰۰۰۵^{a}	۱/۲۷۹۷۵±۰/۱۱۶^{cde}
S_4L_2	۳/۹۹۷۰±۰/۰۰۳^{bcd}	۰/۳۸۴۹۵۱±۰/۰۰۲^{abcd}	۰/۰۰۲۵۴۵۷±۰^{a}	۱/۵۲۹۴۲±۰/۰۱۷^{ab}
S_4L_3	۳/۴۶۰۹۱±۰/۰۴۳^{ef}	۰/۳۶۵۵۵۳±۰/۰۰۳^{bcde}	۰/۰۰۳۶۰۲۷±۰/۰۰۰۱^{a}	۱/۴۴۰۸۷±۰/۰۳۷^{abcd}
S_5L_1	۳/۳۴۶۰۸±۰/۰۷۳^{f}	۰/۳۷۳۲۵۸±۰/۰۲۰^{abcd}	۰/۰۰۴۳۳۳۴±۰/۰۰۱۰^{a}	۱/۲۴۹۳۵±۰/۰۸۲^{de}
S_5L_2	۳/۳۵۸۳۵±۰/۰۴۴^{f}	۰/۳۵۶۱۰۴±۰/۰۰۴^{cde}	۰/۰۰۲۶۴۱۲±۰/۰۰۰۳^{a}	۱/۱۷۶۶۸±۰/۰۰۵^{e}
S_5L_3	۳/۶۴۵۵۸±۰/۰۳۹^{def}	۰/۳۷۴۸۸۷±۰/۰۰۴^{abcd}	۰/۰۰۳۴۳۰۱±۰^{a}	۱/۵۱۸۴۹±۰/۰۰۶^{ab}
S_6L_1	۳/۹۱۸۳۲±۰/۱۲۸^{cd}	۰/۳۱۲۶۳۰±۰/۰۲۵^{e}	۰/۰۰۳۲۲۸۲±۰/۰۰۱۰^{a}	۱/۲۲۶۴۶±۰/۱۲۹^{de}
S_6L_2	۴/۰۵۴۳۵±۰/۰۷۶^{abc}	۰/۳۵۰۴۳۴±۰/۰۱۹^{cde}	۰/۰۰۴۶۷۰۲±۰/۰۰۰۴^{a}	۱/۴۱۹۳۲±۰/۰۵۱^{abcd}
S_6L_3	۳/۴۲۸۷۸±۰/۰۲۱^{f}	۰/۳۴۲۳۳۲±۰/۰۰۱^{cde}	۰/۰۰۴۸۲۷۸±۰/۰۰۰۲^{a}	۱/۴۵۰۱۳±۰/۰۱۶^{abcd}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند دارای تفاوت معنی دار می باشند(P<۰/۰۵).

امانی و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی اثر فعالیت پروتئولیتیکی و تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط آغازگرهای بومی بر ویژگی‌های تکنولوژیکی و ارگانولپتیکی ماست‌های تولید شده توسط آغازگرهای بومی جدا شده از ماست‌های بومی ایران پرداختند، یازده نمونه ماست با انتخاب ۵ جدایه *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* و ۲ جدایه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* تولید شد بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی نشان داد که تفاوت قابل ملاحظه‌ای در قدرت تولید اسید جدایه‌های تولیدکننده اگزوپلی ساکارید(EPS) و جدایه‌های غیرتولیدکننده اگزوپلی‌ساکارید وجود نداشته است همچنین جدایه‌های با فعالیت پروتئولیتیک بالا توانایی تولید اسید کمتری داشته‌اند و زنده مانی این جدایه‌ها طی دوره نگهداری بیشتر از جدایه‌های دیگر بوده است. نمونه‌های حاوی آغازگر تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید، خصوصیات بافتی (قوام، آب‌اندازی و ظرفیت نگهداری) بهتری نسبت به نمونه‌های تولید شده توسط آغازگرهای(NEPS) نشان دادند. که در برخی از نمونه‌ها با توجه به نوع EPS تولید شده و فعالیت پروتئولیتیکی بالا خصوصیات بافتی مطلوب کمتری داشتند آب‌اندازی نمونه‌ها طی زمان نگهداری

کاهش و ظرفیت نگهداری افزایش یافت؛ ولی روند سینرزیس و ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگر با فعالیت پروتئولیتیک بالا تا روز ۲۱ نگهداری دارای روند مشابه نمونه‌های دیگر بوده است و در هفته چهارم روند تغییرات عوض شده و میزان آب‌اندازی افزایش و ظرفیت نگهداری کاهش یافته است. Çelik (۲۰۰۷) در بررسی خود مقدار آب‌اندازی ۲۰ نمونه ماست تولید شده را با استفاده از آغازگرهای بومی ترکیه در محدوده ۶۲/۰۱–۴۵/۰۰ درصد بیان کرد، که در طی ۲۱ روز زمان نگهداری میزان آب‌اندازی کاهش یافت. به‌طور کلی آب‌اندازی وقتی اتفاق می‌افتد که ژل ماست توانایی خود را در به دام انداختن تمام فاز سرم به علت تضعیف شبکه ژل از دست می‌دهد. بنابراین تقویت ژل ماست می‌تواند آب‌اندازی را کاهش دهد (Lucey,2002). جدا شدن آب ماست (سرم) که با ظهور مایع روی سطح لخته نمایان می‌شود، یک عیب شایع در فرآورده‌های لبنی تخمیری می‌باشد که در این پژوهش، ماست‌های تولید شده با آغازگرهای بومی عاری از این عیب بودند.

جدول ٤– ویژگی‌های حسی نمونه‌های ماست

نمونه	رنگ	بافت	بو	طعم	ظاهر	پذیرش کلی
S_1L_1	۵±۰ ^{a}	۴/۶۱±۰/۰۱۲^{cde}	۴/۵۱±۰/۰۱۲^{efg}	۴/۷۱±۰/۰۱۲^{c}	۴/۸۱±۰/۰۱۷^{bc}	۴/۷۴±۰/۰۱۵^{c}
S_1L_2	۴/۸۴±۰/۰۰۶^{d}	۴/۵۱±۰/۰۱۲^{ef}	۳/۹۴±۰/۰۰۶^{j}	۳/۹۱±۰/۰۲۳^{ij}	۳/۶۶±۰/۰۵۵^{g}	۴/۰۳±۰/۰۲۹^{i}
S_1L_3	۴/۷۹±۰^{d}	۴/۴۹±۰/۰۱۲^{ef}	۳/۸۳±۰/۰۲۶^{k}	۴/۲۸±۰/۰۱۷^{f}	۴/۵۹±۰/۰۱۲^{d}	۴/۲۹±۰/۰۱۷^{gh}
S_2L_1	۵±۰ ^{a}	۴/۳۸±۰/۰۲۰۲^{f}	۴/۱۰±۰^{h}	۴/۲۰±۰^{g}	۴/۱۵±۰/۰۵۰^{e}	۴/۴۴±۰/۰۳۲^{f}
S_2L_2	۴/۷۳±۰^{e}	۴/۸۱±۰/۰۲۱^{ab}	۴/۴۵±۰/۰۱۵^{fg}	۴/۵۸±۰/۰۲۰^{d}	۴/۴۹±۰/۰۳۱^{d}	۴/۶۳±۰/۰۲۵^{df}
S_2L_3	۵±۰^{a}	۴/۷۲±۰/۰۱۷^{bc}	۴/۵۷±۰/۰۱۷^{de}	۳/۸۸±۰/۰۲۹^{j}	۴/۹۰±۰^{ab}	۴/۴۵±۰/۰۴۶^{f}
S_3L_1	۵±۰^{a}	۴/۹۴±۰/۰۰۶^{a}	۴/۷۰±۰^{b}	۴/۹۳±۰/۰۲۳^{a}	۴/۹۰±۰^{ab}	۴/۹۲±۰/۰۲۵^{ab}
S_3L_2	۴/۶۹±۰^{e}	۴/۴۱±۰/۰۱۲^{f}	۴/۰۲±۰/۰۲۹^{i}	۴/۴۲±۰/۰۰۶^{e}	۳/۹۵±۰/۰۱۷^{f}	۴/۲۱±۰/۰۰۶^{h}
S_3L_3	۴/۳۱±۰/۰۰۶^{g}	۳/۰۲±۰/۰۲۹^{j}	۳/۳۴±۰/۰۳۵^{l}	۲/۸۸±۰/۰۲۶^{l}	۲/۵۸±۰/۰۶۸^{h}	۳/۰۳±۰/۰۲۹^{l}
S_4L_1	۴/۴۹±۰/۰۴۲^{f}	۳/۷۵±۰/۰۴۵^{i}	۳/۸۴±۰^{k}	۴/۲۸±۰/۰۱۷^{f}	۳/۷۰±۰/۰۰۶^{g}	۴/۳۲±۰/۰۲۳^{g}
S_4L_2	۵±۰^{a}	۴/۷۸±۰/۰۴۷^{ab}	۴/۸۱±۰/۰۳۲^{a}	۴/۷۵±۰/۰۴۰^{c}	۴/۹۳±۰/۰۲۹^{a}	۵±۰^{a}
S_4L_3	۴/۹۵±۰/۰۵^{b}	۴/۰۷±۰/۰۶۴^{gh}	۳/۹۴±۰/۰۴۰^{j}	۳/۹۷±۰/۰۲۹^{gi}	۴/۱۵±۰/۰۵۰^{e}	۳/۹۹±۰/۰۱۲^{i}
S_5L_1	۵±۰^{a}	۴/۶۱±۰/۰۱۲^{cde}	۴/۵۰±۰^{fg}	۴/۶۲±۰/۰۲۱^{d}	۴/۵۳±۰/۰۲۵^{d}	۴/۷۲±۰/۰۱۵^{c}
S_5L_2	۴/۹۴±۰^{bc}	۴/۲۱±۰/۰۰۶^{g}	۴/۶۸±۰/۰۲۶^{bc}	۴/۴۱±۰/۰۱۲^{e}	۴/۷۹±۰/۰۰۶^{c}	۴/۶۲±۰/۰۱۷^{e}
S_5L_3	۴/۸۹±۰/۰۱۲^{c}	۴/۷۰±۰/۰۰۶^{bcd}	۴/۱۵±۰^{h}	۴/۰۰±۰^{h}	۳/۶۵±۰/۰۴۵^{g}	۳/۸۳±۰/۰۲۶^{j}
S_6L_1	۵±۰^{a}	۴/۵۳±۰/۰۵۸^{def}	۴/۶۲±۰/۰۲۹^{cd}	۴/۷۰±۰^{c}	۴/۷۹±۰/۰۱۲^{c}	۴/۷۰±۰/۰۰۶^{cd}
S_6L_2	۵±۰^{a}	۴/۹۴±۰/۰۳۲^{a}	۴/۵۱±۰/۰۱۲^{ef}	۴/۸۳±۰/۰۲۳^{b}	۴/۹۰±۰^{ab}	۴/۹۲±۰/۰۲۹^{b}
S_6L_3	۵±۰^{a}	۴±۰^{h}	۴/۴۴±۰/۰۴۰^{g}	۳/۵۳±۰/۰۴۶^{k}	۴/۲۴±۰/۰۳۶^{e}	۳/۶۴±۰/۰۴۶^{k}

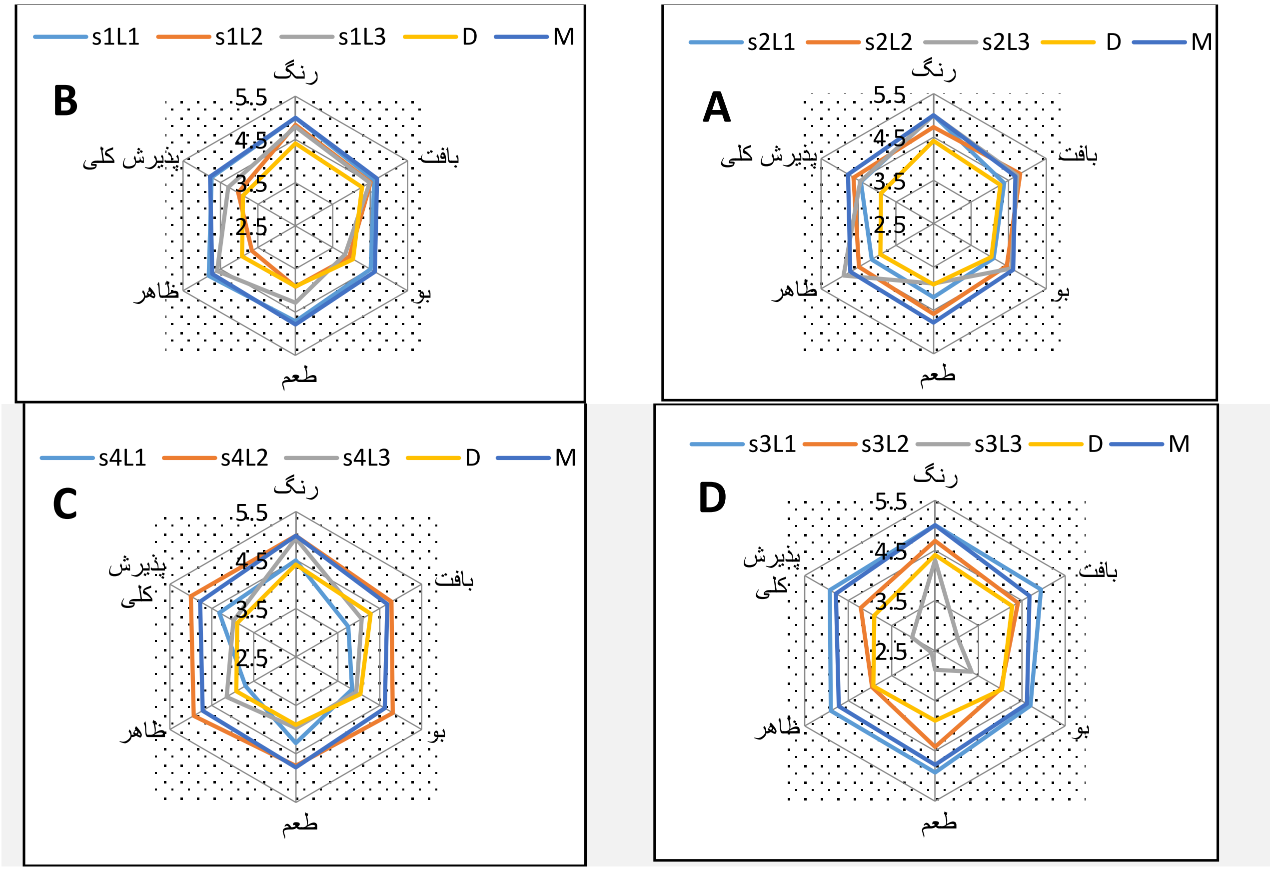
ویژگی‌های بافتی

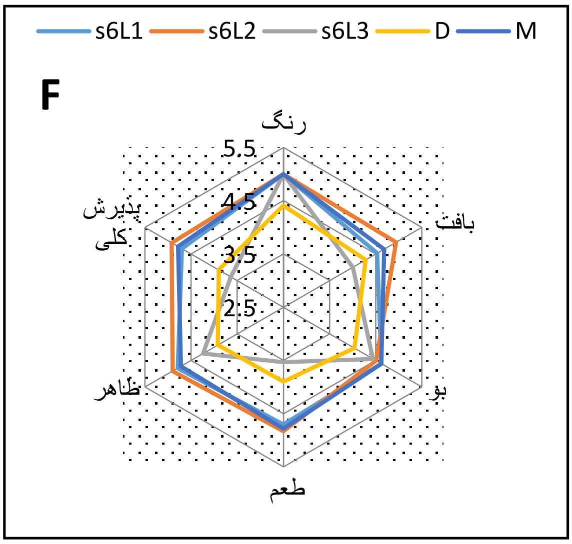
ویژگی‌های بافتی ۱۸ نمونه ماست در جدول ۳ نشان داده شده است. سفتی عبارت است از نیروی لازم برای فشردگی کامل نمونه توسط دندان آسیاب و یا نیروی لازم برای رسیدن به یک تغییر شکل مشخص. در یک منحنی TPA برابر نیروی اعمال شده در پیک اولین سیکل فشرده‌سازی و بر حسب نیوتن می باشد (Bourne,2002). سفتی نمونه‌ها در محدوده ۳تا ۴ نیوتن بود . میزان سفتی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری با هم متفاوت بودند ($P<0/05$)، کمترین میزان سفتی مربوط به ترکیب S_3L_3 بود. از آنجایی که ماست با سفتی بالا نزد مصرف کننده مقبولیت بیشتری دارد بنابراین این ترکیب از بین سایر نمونه‌ها حذف شد. بالاترین میزان سفتی نسبت به سایر ترکیب‌ها و نمونه‌های شاهد نیز مربوط به ترکیب S_6L_2 و S_3L_2 و S_2L_2 بود ($P<0/05$). این تفاوت در میزان سفتی نمونه‌ها را می‌توان به دلیل تولید متابولیت‌های احتمالی از سویه‌ها دانست. چسبندگی فاکتور مناسبی برای ارزیابی پایداری محصول می‌باشد و در ایجاد احساس دهانی مطلوب و بهبود ویژگی بافتی و پایداری محصول موثر است (Zhao *et al*,2006). چسبندگی

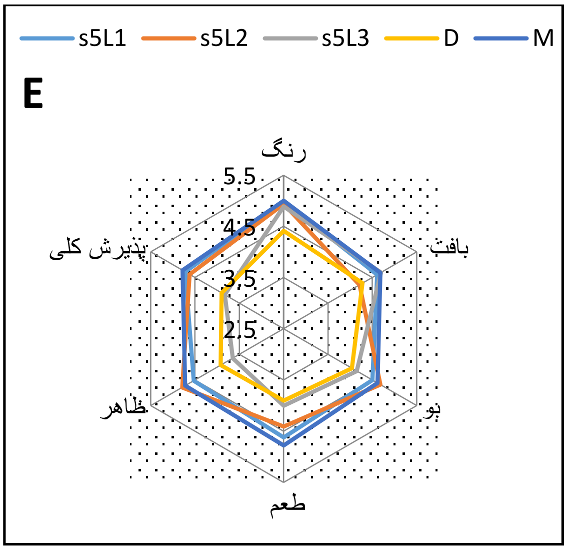
عبارت از نیروی لازم جهت جدا کردن ماده غذایی از سقف دهان طی خوردن غذا می‌باشد و به عبارت دیگر کار لازم برای غلبه بر نیروهای چسبندگی بین سطح ماده غذایی و سایر سطوح در تماس با ماده غذایی می‌باشد. در منحنی TPA عبارت است از سطح منفی منحنی اول (ناحیه Area3) بر حسب نیوتن در متر یا ثانیه می‌باشد (Bourne,2002). نتایج نشان داد که نمونه‌ها از جهت ویژگی چسبندگی با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌دار نداشتند (P>۰/۰۵). پیوستگی عبارت است از مقدار تغییر شکل نمونه قبل از گسیختگی طی فشردگی دندان‌های آسیاب و یا به عبارت دیگر شدت پیوندهای داخلی تشکیل‌دهنده بدنه محصول و بیانگر چگونگی تحمل تغییر شکل در دومین سیکل بارگذاری نسبت به تغییر شکل در اولین سیکل بارگذاری می‌باشد. برابر است با سطح زیر منحنی سیکل دوم نسبت به سطح زیر منحنی سیکل اول Area2/Area1 و بدون واحد می‌باشد (Bourne,2002). پیوستگی نمونه‌ها در محدوده ۰/۳۱۲۶۳۰-۰/۴۲۴۹۳۷ قرار داشت. میزان پیوستگی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری با هم متفاوت بودند، کمترین مقدار پیوستگی مربوط به ترکیب S_3L_2 وS_6L_1 و بیشترین مقدار پیوستگی نسبت به سایر ترکیب‌ها نیز مربوط به ترکیب S_6L_2، S_3L_2 و S_2L_2 بود (P<۰/۰۵)

ارزیابی حسی

نتایج حاصل از ارزیابی حسی در جدول ۴ نشان داده شده است. با توجه به امتیازات ارزیابی حسی مشخص شد که ترکیب S_3L_3 از تمام جهات در بین نمونه‌ها دارای کمترین امتیاز بود (P<۰/۰۵)، که همبستگی خوبی با نتایج آزمون ویژگی های بافتی داشت بنابراین حذف شد، ترکیب‌های S_6L_1، S_6L_2، S_4L_2، S_3L_1، S_5L_1، S_5L_2، S_2L_2، S_1L_1 دارای بیشترین امتیاز حسی بودند و امتیاز نمونه‌های مذکور مشابه امتیاز حسی ماست شاهد Micromilk (پذیرش کلی=۴/۷۸) و بیشتر از امتیاز حسی ماست تولید شده توسط کشت آغازگر DSM (پذیرش کلی=۳/۹۰) بود. ترکیب‌های S_6L_2، S_4L_2، S_3L_1 از جهت تمام ویژگی‌های مورد ارزیابی دارای امتیاز بیشتری نسبت به دو نمونه شاهد بودند (جدول ۵). همچنین در شکل ۴ مقایسه ویژگی‌های حسی نمونه‌ها با دو نمونه شاهد نشان داده شده است







شکل ٤- مقایسه ویژگی‌های حسی نمونه‌ها با دو نمونه شاهد.

شکل (A): مقایسه ویژگی‌های حسی ترکیب *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* کد S_2 با سه سویه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* کد L_1، L_2 و L_3
(B): مقایسه ویژگی‌های حسی ترکیب *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* کد S_1 با سه سویه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* کد L_1، L_2 و L_3
(C):مقایسه ویژگی‌های حسی ترکیب *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* کد S_4 با سه سویه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* کد L_1، L_2 و L_3
(D): مقایسه ویژگی‌های حسی ترکیب *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* کد S_3 با سه سویه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* کد L_1، L_2 و L_3
(E): مقایسه ویژگی‌های حسی ترکیب *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* کد S_5 با سه سویه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* کد L_1، L_2 و L_3
(F): مقایسه ویژگی‌های حسی ترکیب *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* کد S_6 با سه سویه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* کد L_1، L_2 و L_3.

جدول ٥- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و بافت نمونه‌های شاهد

ویژگی‌های مورد بررسی	ماست شاهد	ماست شاهد	ویژگی‌های مورد بررسی	ماست شاهد	ماست شاهد
pH	۴/۳۲±۰/۰۲۱	۴/۵۲±۰/۰۵۱	زمان تخمیر (ساعت)	۵/۳۰	۴/۳۰±۰
اسیدیته(٪اسیدلاکتیک)	۰/۷۴±۰/۰۰۶	۰/۷۵±۰/۰۲۰	رنگ	۴/۴۱±۰/۰۴۰	۵±۰
آب‌اندازی	۴۸/۲۶±۲/۱۲	۴۳/۸۹±۰/۰۵۱	بافت	۴/۲۸±۰/۵۳۵	۴/۶۰±۰/۰۱۵
سفتی (N)	۴/۰۳۱۱۹±۰/۱۶۰	۳/۷۶۲۳۶۰±۰/۰۳۳	بو	۴/۰۴±۰/۰۵۹	۴/۶۲±۰/۰۳۶
پیوستگی	۰/۳۲۷۶۷۱±۰/۰۱۷	۰/۴۴۶۹۵۲±۰	طعم	۳/۹۰±۰/۰۵۰	۴/۷۸±۰/۰۲۱
صمغیت (N)	۱/۳۱۹۱۷±۰/۰۲۳	۱/۵۹۴۷۶±۰/۰۶۴	ظاهر	۳/۹۲±۰/۰۲۵	۴/۷۲±۰/۰۲۵
چسبندگی (Nm)	۰/۰۰۳۳۱۹±۰	۰/۰۰۳۷۹۸۳۶±۰	پذیرش کلی	۳/۹۰±۰/۰۲۶	۴/۷۸±۰/۰۴۴

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه انتخاب آغازگر در تولید ماست از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و مطالعه کشت‌های آغازگر بومی کمک به تداوم تولید فرآورده‌های سنتی و نزدیک به ذائقه مصرف کننده ایرانی می‌نماید، همچنین منجر به حفظ ذخایر ژنتیکی و میکروبی کشور و ایجاد کسب و کار و جلوگیری از خروج ارز می‌گردد. لذا بر آن شدیم تا در این پژوهش به تعیین خصوصیات رئولوژیکی، حسی و فیزیکوشیمیایی ماست‌های تولید شده توسط آغازگرهای بومی ایزوله شده از ماست‌های نواحی خراسان و مقایسه‌ی آن‌ها با ماست‌های تولید شده توسط آغازگر تجاری بپردازیم.

در ابتدا با استفاده از ۶ سویه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و ۳ سویه *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* ۱۸ نمونه ماست تولید شد، از نظر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و حسی مورد آنالیز قرار گرفتند و سپس با ماست‌های تولید شده توسط آغازگر تجاری مقایسه شدند نتایج مطالعه حاضر نشان داد:

از بین ۱۸ ترکیب مورد مقایسه با ماست‌های تولید شده توسط آغازگر تجاری، آن دسته از نمونه‌هایی که در آن‌ها *لاکتوباسیلوس*

دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس کد L_3 به‌کار رفته بود دارای امتیاز حسی پائین‌تری نسبت به سایر نمونه‌ها و ماست‌های تولیدی توسط آغازگر تجاری بودند و در بین مصرف کننده‌ها مقبولیت کمتری داشتند همچنین از نظر جهات دیگری همانند: فعالیت پروتئولیتیک، زمان تخمیر و... نتایج ضعیفی را از خود نشان دادند به‌طوری که فرآیند تخمیر ترکیب S_3L_3، ۶ ساعت به طول انجامید. این لاکتوباسیلوس در مقایسه با دو لاکتوباسیلوس دیگر دارای فعالیت پروتئولیتیکی پائین‌تری بود، بنابراین۶ ترکیب ایجاد شده با *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* کد L_3 حذف گردیدند سپس از بین ۱۲ نمونه باقی مانده با توجه به نتایج آزمون‌های خصوصیات حسی و فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی در مقایسه با آغازگرهای صنعتی و همچنین نتایج حاصل از آزمون پروتئولیتیک نشان داد که لاکتوباسیلوس‌های کد L_2، L_1 و تمام *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*‌های مورد بررسی دارای فعالیت پروتئولیتیک بالایی بودند و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* کد S_6 نسبت به سایرین فعالیت بیشتری را نشان داد و از حیث تولید گابا *استرپتوکوکوس*‌های کد S_6، S_5 و S_1 نتایج خوبی را نشان دادند همچنین سرعت تولید اسید در تمام ۶ سویه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* زیر ۵ ساعت بود و سویه ی کد S_6 نیز در بین سایرین کمترین زمان جهت تولید اسید کافی برای تخمیر ماست را داشت.

باعنایت به آنچه گفته شد مقایسه بین نمونه‌های تولید شده توسط آغازگرهای بومی و آغازگرهای تجاری نشان داد که این آغازگرهای بومی از نظر خصوصیات حسی، رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی مانند آغازگرهای تجاری عمل می‌کنند و مقبولیت نمونه‌های تولید شده توسط مصرف کننده مانند نمونه‌های تولید شده توسط آغازگرهای تجاری بوده است.

در پایان سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* با کدهای S_2، S_4، S_5، S_1، S_6 و سویه‌های *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه بولگاریکوس با کد L_1 و L_2 در قالب ترکیب‌های S_1L_1، S_2L_2، S_5L_1، S_6L_2،S_4L_2 دارای پتانسیل کافی جهت به‌کارگیری آن‌ها در صنعت به‌عنوان آغازگر ماست فراسودمند هستند.

منابع

Amani, E., Eskandari, M H., Shekar Forosh, S., Hanif Pour, M A.2015. Investigation the effects of proteolytic activity and exopolysaccharide production by native starter bacteria on technological and organoleptic properties of yogurts. *Food Science and Technology*. 13 (58):15-29.

Birollo, G.A., Reinheimer, J.A., and Vinderola, C.G. 2000. Viability of lactic acid microflora in different types of yoghurt. *Journal of Food Research International*, 33: 799–805.

Bourne M.C. 2002. Food Texture and Viscosity: *Concept and Measurement*. Academic press. London.

Burkus, Z., and Temelli, F. 2005. Rheological properties of barley b-glucan. *Journal of Carbohydrate Polymers*, 59: 459–465.

BumPark, k., & Oh, S.H. 2007. Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. *Bioresource Technology*, 98, 1675-1679.

Çelik, E.F. 2007. Determination of aroma compounds and exopolysaccharide formation by Lactic acid bacteria isolated from traditional yoghurt. MSc Thesis, Izmir institute of technology.

Chieh Wang, Y., Chui Yu, R. and Chun, C.C. 2002. Growth and survival of bifidobacteria and lactic acid bacteria during the fermentation and storage of cultured soymilk drinks. *Journal of Food Microbiology*, 19: 501–508.

Corrieu, G., and Béal, C. 2016. Yogurt: The Product and its manufacture. *Encyclopedia of Food and Health*, 617-624.

Cruz, N.S., Capellas, M., Jaramillo, D.P., Trujillo, A.J., Guamis, B., and Ferragut, V. 2009 .Soymilk treated by ultra-high pressure homogenization: acid coagulation properties and characteristics of a soy-yoghurt product. *Journal of Food Hydrocolloids*, 23: 490–496.

Dave, R., and Shah, N. 1997. Effect of level of starter culture on viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts. *Food Australia Journal*, 49: 164–168.

De Vuyst, L. 2000. Technology aspects related to the application of functional starter cultures, *Food Technology and Biotechnology*, 38(2): 105–113.

Dincel, S. 2012. Chemical and rheological properties of yoghurt produced by lactic acid cultures isolated from traditional Turkish yoghurt. A thesis submitted to the graduate school of natural and applied sciences of Middle East Technical University, Turkey.

Domagala, J. 2008. Sensory evaluation and rheological properties of yoghurts prepared from goat, cow and sheep milk. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 11 (3): art. 4.

Donohue, D.C. 2004. Safety of Novel Probiotic Bacteria. In: Lactic Acid Bacteria–Microbiological and functional aspects, 3rd edition. Salminen, S., von Wright, A.,Ouwehand, A. Marcel Dekker, Inc. NY, USA.

Ebdali, S., and Motamedzadegan, A. 2013. The effect of replacement for part of dry material with gelatin to functional properties of fat-free’s set yogurt. *Journal of Food Industry*, 2: 221-229. (In Farsi).
Erkus, O., Okuklu, B., Yenidunya, A.F., and Harsa, S. 2014. High genetic and phenotypic variability of Streptococcus thermophilus strains isolated from artisanal Yuruk yoghurts. LWT - *Food Science and Technology*, 58: 348−354.
Eskandari, m., roshanzadeh, s., jafarpour, d., shokrforosh, sh.1390. Investigation of important industrial technological features of isolated starter bacteria from native Iranian yogurts. Twentieth national congress of food science and technology.
Fadela, C., Abderrahim, C., and Ahmed, B. Sensorial and Physico-Chemical Characteristics of Yoghurt Manufactured with Ewe's and Skim Milk. 2009. *Journal of Dairy & Food Sciences*, 4(2): 136-140.
Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A., and Poznanski, E.2009. Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows’ milk. *International Dairy Journal*, 9: 3−11.
Forgani, S., Peighambardoust, S. H., Hesari, J., Rezai Mokarram, R.2018. Effect of adding millet milk on viability of Lactobacillus acidophilus LA-5, starter bacteria and some physicochemical characteristics of the probiotic yogurt. *Journal of Food Science & Technology*. 76(15): 207-219.
Gauche, G., Tomazi, T., Barreto, P.L.M., Ogliari, P.G., and Bordignon-Luiz, M.T. 2009. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1): 239−243.
Ghorbani Hasansaraei, A. 1393. Yogurt fortification with different sources of omega3 and evaluation of its physicochemical and Sensory properties during storage. PhD Thesis, Ferdowsi University of Mashhad.
Güler-Akın, M.B., and Akın, S.M. 2007. Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat’s milk. *Journal of Food Chemistry*, 100: 788−793.
Guggisberg, D., Cuthbert-Steven, J., Piccinali, P., and Bütikofer, U.P. 2009. Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. *International Dairy Journal*, 19: 107-115.
Habibi Najafi , M.B., Razavi, M.A., Mazaheri Tehrani, M.1377. Yogurt knowledge and technology: our knowledge (Vol. 1). Richard Kenneth Robinson , Tamim . Jihad Daneshgahi (Ferdowsi University of Mashhad).
Hajimohammadi Farimani, R., Habibi Najafi, M.B., Fazly Bazzaz, B.S., Edalatian, M.R. Bahrami, A.R., Belén Flórez, A., Mayo, B. 2016. Identification, typing and functional characterization of dominant lactic acid bacteria strains from Iranian traditional yoghurt. *Journal of Eur Food Res Technol*, 242: 517−526.
Hajimohammadi Farimani, R. 1394. Isolation, phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria from artisanal yoghurts in khorasan and study the technological properties of yoghurt Producing strains. PhD Thesis, Ferdowsi University of Mashhad.
Hagiwara, H., Seki, T., & Ariga, T. 2004. The Effect of Pre-germinated Brown Rice Intake on Blood Glucose and PAI-1 Levels in Streptozotocin induced Diabetic Rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68(2), 444-447.
Hanh, T.H.N., Ong, L., Kentish, S.E., and Gras, S.L. 2015. Homogenisation improves the microstructure, syneresis and rheological properties of buffalo yoghurt. *International Dairy Journal*, 46: 78−87.
Han, X., Zhang, L., Yu, P., Yi, H., and Zhang, Y. 2014. Potential of LAB starter culture isolated from Chinese traditional fermented foods for yoghurt production. *International Dairy Journal*, 34: 247−251.
Huang, J., Mei, L., Sheng, Q., Yao, S., & Lin, D. 2007. Purification and Characterization of glutamate decarboxylase of Lactobacillus brevis CGMCC 1306 isolated from fresh milk. *Chemical Engineering*. 15(2), 157-61.
Innocente, N., Biasutti, M., Rita, F., Brichese, R., Comi, G., and Iacumin, L. 2016. Effect of indigenous *Lactobacillus rhamnosus* isolated from bovine milk on microbiological characteristics and aromatic profile of traditional yogurt. *Journal of Food Science and Technology*, 66: 158-164.
Isanga, J., and Zhang, G. 2009. Production and evaluation of some physicochemical parameters of peanut milk yoghurt. *Journal of Food Science and Technology*, 42(6): 11321138.
Isleten, M., and Karagul-Yuceer, Y. 2006. Effects of dried dairy ingredients on physical and sensory properties of non fat yogurt. *Journal of Dairy Science*, 89(8): 2865−2872.
Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *Journal of Food Science and Technology*, 39(10):1221-1227.
Karazhyan, H., Salari, R.2011. Comparison of physic-chemical, rheological and sensory properties of yoghurt made from fresh cow’s milk and powdered milk. *Journal of Food Science and Technology*, 2(8): 11-19.
Lacroix, N., St-Gelais, D., Champagne, C.P., and Vuillemard, J.C. 2013. Gamma-aminobutyric acid-producing abilities of lactococcal strains isolated from old-style cheese starters. *Journal of Dairy science and Technology*, 93: 315–327.
Lee, W., and Lucey, J. 2010. Formation and physical properties of yogurt. Asian-Aust. *Journal of Animal Science*, 23: 1127−1136.

Letort, C., Nardi, M., Garault, P., Monnet, V., and Juillard, V. 2002. Casein utilization by Streptococcus thermophilus results in a diauxic growth in milk. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 68: 3162-3165.

Li, H., & Cao, Y. 2010. Lactic acid bacterial cell factories for gamma-aminobutyric acid *Amino Acids*, *39*, 1107-1116.

Lucey, J.A. 2001. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. *Journal of Food Hydrocolloids*, 15: 603–608.

Lucey, J.A. 2002. Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science*, 85(2): 281–294.

Marshall, V.M., and Rawson, H.L. 1999. Effects of exopolysaccharide producing strains of thermophilic lactic acid bacteria on the texture of stirred yogurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: 137–143.

Nespolo, C.R. and Brandelli, A. 2010. Production of bacteriocin-like substances by lactic acid bacteria isolated from regional ovine cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41: 1009–1018.

Ng, E W., Yeung, M., and Tong, P S. 2011. Effects of yogurt starter cultures on the survival of Lactobacillus acidophilus. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1): 169–175.

Oliveira, M.N., Sodini, I., Remeuf, F. and Corrieu, G. 2001. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and Microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. *Journal of International Dairy*, 11: 935–942.

Pimentel, T.C., Garcia, S., and Prudencio, S.H. 2012. Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of Lactobacillus paracasei ssp. paracasei in set yoghurts during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1):104–110.

Pourahmad, R., and Mazaheriassadi, M. 2005.Yoghurt production by Iranian native starter cultures Nutrition & Food Science, 35(6): 410-415.

pourahmad, R., and Mazaheriassadi, M. 2010. Evaluation of acetaldehyde content in yogurts produced by native microbial strains. Journal of Food Technology and Nutrition. 7 (26); 2-9.

Qiyamati Yazdi, F., 1391. Population diversity of lactic acid bacteria in south Khorasan, Iran. Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources - Faculty of Agriculture.

Ramchandran, L., and Shah, N.P. 2009. Effect of exopolysaccharides on the proteolytic and angiotensin-I converting enzyme-inhibitory activities and textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 92(3): 895–906.

Ramchandran, L., and Shah, N.P. 2010. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. *Journal of Food Science and technology*, 43: 819-827.

Rajiv, I., and Negendra, P. Sh. 1997. Viability of Yoghurt and Probiotic Bacteria in Yoghurts Made from Commercial Starter Cultures. *International Dairy Journal*, 7: 31–41.

Robinson, R.K. 2007. Manufacture yoghurt and fermented milk. *International Dairy Journal*. 60(3): 237-247.

Robinson, R.K. 2005. Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products. John Wiley & Sons.

Sanders, JW, Leenhouts, K., Burghoorn, J., Brands, JR., Venema, G., & Kok, J.A. 1998. Chloride-inducible acid resistance mechanism in Lactococcus lactis and its regulation. *Molecular Microbiology*, 27(2), 299-310.

Serra, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., and Ferragut, V. 2009. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Journal of Food Hydrocolloids*, 23(1): 82–91.

Shaker, R.R., Jumah, R.Y., and Abu-Jdayil, B. 2000. Reological properties of plain yoghurt during coagulation process: impact of fat content and preheat treatment of milk. *Journal of Food Engineering*, 44: 175–180.

Shoji, A.S., Oliveira, A.C., Balieiro, J.C.C., Freittas. O., Thomazini, M., Heinemann, R.J.B., Okuro, P.K., and Favaro, C.S. 2013. Viability of L.acidophilus microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. *Journal of Food and Bioproducts Processing*, 91: 83–88.

Soomro, A. H., and Masud, T. 2008. Selection of yoghurt starter culture from indigenous isolates of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* on the basis of technological properties. *Journal of Annals of Microbiology*, 58 (1): 67-71.

Sybesma, W., Hugenholtz, J., de Vos, W.M. Smid, E.J. 2006. Safe use of genetically modified lactic acid bacteria in food. Bringing the gap between consumers, green groups, and industry. *Electronic journal of Biotechnology*, 9(4): 424–448.

Tamime, A.Y., Robinson, R.K. 2007. Yoghurt: Science and Technology. 3rd ed. Woodhead Publishing. Cambridge, UK.

Ueno, H. 2000. Enzymatic and structural aspects on glutamate decarboxylase. *Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 10**,** 67-79.

Xanthopoulos, V., Petridis, D., Tzanetakis, N. 2001. Characterization and classification of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* strains isolated from traditional Greek yoghurts. *Journal of Food Science*. 66:747-752.

Yang, M., and Li, L. 2010. Characteristics of Probiotic Soy Yogurt, *Journal of Food technology Biotechnology*, 48(4): 490−496.

Yvon, M. 2006. Key enzymes for flavour formation by lactic acid bacteria. *Australian Journal of Dairy Technology*, 61: 80−96.

Zhao, Q.Z., Wang, J.S., Zhao, M.M., Jiang, Y.M., and Chun, C. 2006. Effect of Casein Hydrolysates on Yogurt Fermentation and Texture Properties during Storage. *Journal of Food Technology and Biotechnology*. 44 (3): 429–434.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 4, Oct- Nov 2021, p. 485-500

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۴، مهر- آبان ۱۴۰۰، ص. ۵۰۰-۴۸۵

Comparison of technological characteristics of native starter isolates from traditional Khorasan yogurts with commercial starter in yogurt production

F. Barmak[1], M. B. Habibi Najafi[2*], R. H. Farimani[3], M. R. Edalatian[4]

Received: 2020.05.10
Accepted: 2020.07.29

Introduction: One of the most important factors in producing yogurt is choosing the right starter. Native isolates of any country are among the genetic resources of that country, which play a major role in the production and development of the organoleptic properties of fermented products. Therefore, it seems necessary to study the industrial applications of native isolates. In this study, the production of yogurt was investigated by using native starter isolates from traditional Khorasan yogurts and its comparison with yogurts produced with two types of commercial starters.

Materials and methods: Six strains of *Streptococcus thermophilus* and three strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* isolated from traditional Khorasan yogurts were selected. The proteolytic activity of *Streptococcus thermophilus* strains was determined according to the method of Erkus et al(2012) and the proteolytic activity of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* was determined according to the method of Nespolo et al.(2010). Milk acidification activity byall examined strains was evaluated according to the method of Erkus et al.(2012). The production property of gamma-aminobutyric acid of native isolates was also evaluated using the method of Lacroix et al. (2013). Yogurt was produced using commercial starters and native isolates. Acidity and pH were measured according to Iranian National Standard No. 2852. Synersis of yogurt samples was measured using centrifugation according to Çelik (2007) method. In order to measure textural properties, a combination of backward extrusion techniques and Texture Profile Analysis (TPA) was used (Yang et al, 2010). Sensory characteristics of yogurt samples were evaluated by 20 panelists using five-point hedonic scale. This study was conducted based on factorial experiment using a completely randomized design. Statistical analysis of data was performed using Minitab Statistical Software (version 17) and ANOVA. Comparison of means was performed using Tukey's test at the significant level ($P<0.05$).

Results and discussion: The results of proteolytic activity of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* showed that the L_3 code was weaker than the other two strains. All *Streptococcus thermophilus* strains were positive protease. All *Streptococcus thermophilus* strains of the study decreased the pH of the milk to 4.6 in less than five hours, and *Streptococcus thermophilus* strain S_6 code, as the fastest acid producer, decreased the pH of the milk to 4.6within 3 and half hours (Figure 2). The results of GABA production showed that among the *streptococcus thermophilus* strains, S_1, S_5 and S6 codes had distinct blue discoloration. Among the *Lactobacillus* strains, except the L_3 strain, two other strains produced green color. Of the 18 samples of the yoghurt, S_5L_2 and S_2L_2 samples showed the highest decrease in pH and increased in acidity compared to other samples after being stored refrigerated overnight ($P <0.05$). The other samples had the same pH and acidity changes as the control samples after overnight refrigeration. The results show the ability of yogurt producion by native starters to compete with those produced by commercial starters in terms of technological characteristics. Thus, samples with codes S_2L_2, S_3L_1, S_3L_2, and S_1L_1 showed less Synersis of yogurt than commercial starters. This decrease in the Synersis of yogurt might due to the possibility of exopolysaccharide production by these strains. Textural characteristics of yogurt samples were the hardness of the samples in the range of 3 to 4 N, which was significantly different ($P <0.05$). The lowest hardness was observed for the S_3L_3, which can be attributed to the poor proteolytic activity of the strain. L_3, S_6L_2, S_3L_2 and S_2L_2 had the highest hardness compared to other compounds and control samples ($P <0.05$). This differences in the hardness of the samples can be attributed to the possible production of some metabolites by the strains. There was no statistically significant difference in the adhesion properties of the samples ($p <0.05$). Considering the sensory evaluation scores, it was found that in all respects, S_3L_3 had the lowest score among the other samples ($P <0.05$). This was in good correlation with the results of the textural properties of the test. Therefore, this compound was eliminated compared to the control samples. Finally, considering the proteolytic behavior of the strains and the ability to produce acid and GABA, as well as the sensory, rheological and physicochemical properties of 18 samples in comparison to the two control samples, *Streptococcus thermophilus* strains with codes S_4, S_2, S_5, S_1, S_6, and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* strains with codes L_1 and L_2 have the potential to be used as commercial starters in the form of compounds S_1L_1, S_2L_2, S_5L_1, S_6L_2, S_4L_2.

Keywords: Synersis, Acidity, Native starter, Yogurt, Texture profile.

1, 2 and 4. MSc Student, Professor and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3. Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman.
(Corresponding Author Email: habibi@um.ac.ir)